

Retts Syndrom og MECP2 Duplication Syndrome

Det kliniske bildet og betydningen av MeCP2



Silje Madeleine Kalstø

Veileder: Ola H. Skjeldal

Litteraturstudium ved det medisinske fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

September 2013

Innholdsfortegnelse

1. Abstrakt	3
1. Innledning	5
2. Metode	6
3. Resultat	7
3.1 RTT	7
<i>Historien Bak RTT</i>	7
<i>RTT og Det Kliniske Bildet</i>	7
<i>RTT og Genetikk</i>	13
3.2 MECP2ds	15
<i>Historien Bak MECP2ds</i>	15
<i>MECP2ds og Det Kliniske bildet</i>	15
<i>MECP2ds og Genetikk</i>	18
3.3 Epigenetikk og MeCP2 Protein	20
3.4 Behandling – nå og i framtiden	22
4. Diskusjon og Konklusjon	24
4.1 Hvordan ser det kliniske bildet ut ved RTT og MECP2ds, og hvilke fenotypiske særtrekk er delt av de to syndromene.	24
4.2 Hva er den epigenetiske betydningen av MeCP2 proteinet i sykdomsutviklingen av RTT og MECP2ds?	27
4.3 Hvordan ser framtidsutsiktene ut for behandling for RTT og MECP2ds?	30
5. Ordliste	33
6. Kildehenvisninger	34

1. Abstrakt.

Objective: The aim of this review is to investigate the two syndromes Rett syndrome (RTT) and MECP2 duplication syndrome (MECP2ds), with emphasis on phenotypic traits that are shared by the two syndromes. Additional goals is to explore the role of the MeCP2 protein in an epigenetic context, and in the pathogenesis of the two syndromes. Finally I will look at the future prospects of finding treatments for the two syndromes that extend beyond conservative reliever therapy.

Background: RTT and MECP2ds are both neurological disorders related to faulty X chromosome, which both provide developmental disorders. RTT targets females and is caused by a deletion of the MECP2 gene encoding the methyl-CpG-binding protein 2 (MeCP2), and thus loss of function of the protein. MECP2ds almost exclusively affects males and is caused by a duplication of the MECP2 gene, leading to gain of function of the MeCP2 protein. Nevertheless the two syndromes show a noteworthy number of similar phenotypic characteristics.

Method: Literature searches including both review articles and original publications in McMaster Plus, PubMed/Medline, Ovid, Cochrane, and Google Scholar. Only articles written in english or norwegian were included. Searches were based on relevant keywords focused on the genetic and clinical aspects of RTT and MECP2ds, correlation between the two syndromes and the MeCP2 protein, the epigenetic aspect of the MeCP2 protein, as well as the more recent publications regarding treatment.

Result and Conclusion: Despite a great deal of differences between RTT and MECP2ds, there are remarkably many similarities in the phenotypic expression shown by the two syndromes, such as aberrant psychomotor development and motor dysfunction, regression, reduced or absent speech and walking ability, ataxia and spasticity, autism, stereotypical movements, epilepsy and gastrointestinal dysfunction.

The MeCP2 protein is a transcription factor that controls gene expression, and is a key epigenetic factor in development and maintenance of the central nervous system. Common features of neurological diseases in humans which are caused by either loss or increased MeCP2 function, suggest that even small changes in the level of MeCP2 protein results in developmental neurological problems.

There is intense research in the field to find gene therapy and various drugs as potential treatments for diseases related to disorders of the MeCP2 protein. Gene therapy has shown some promising results in vitro using retroviral vectors. Medications such as IGF1 and Gentamicin may be promising as a therapy directed at early stages of development in RTT, as they may reduce the consequences of MECP2 mutations. But to restore the protein levels remains a great challenge, since an excess of MeCP2 can be just as damaging as the loss of expression. Clinical trials are not currently within reach. Considering MECP2ds it is also necessary to facilitate research on the molecular background of immunodeficiency, which is a major cause of premature death in this patient population.

1. Innledning

Mutasjoner i MECP2 genet som koder for det X-linkede methyl-CpG-binding protein 2 er den viktigste årsaken til Rett syndrom (heretter omtalt som RTT). MECP2 mutasjoner finnes også hos pasienter med andre nevrologiske sykdommer slik som læreversker, neonatal encephalopathy, autisme, X-linket mental retardasjon og Angelmanns syndrom. I den senere tid er det dessuten funnet at duplikasjoner av MECP2 genet er opphavet til et syndrom med en distinkt fenotype nå kjent som MECP2 duplication syndrom (heretter omtalt som MECP2ds). I denne oppgaven har jeg valgt å se nærmere på RTT og MECP2ds.

RTT og MECP2ds er begge nevrologiske tilstander knyttet molekylærbiologiske feil på X-kromosomet, og som begge gir utviklingsforstyrrelser. RTT ble beskrevet første gang i 1966 av Andreas Rett [Rett 1966], mens MECP2ds ikke ble beskrevet før nesten 50 år senere [Meins et al. 2005; [Van Esch et al. 2005]. RTT rammer jenter, og oppstår som følge av en delesjon av genet MECP2 som koder for methyl-CpG-binding protein 2 (heretter kalt MeCP2). I motsetning til RTT rammer MECP2ds nesten utelukkende gutter, og er forårsaket av en duplikasjon av MECP2 genet. RTT og MECP2ds rammer altså hvert sitt kjønn forårsaket av to ulike typer feil i MECP2 genet, men de gir en del overlappende fenotypiske kjennetegn. Da begge syndromene ser ut til å være forårsaket av en forstyrrelse i uttrykket av MeCP2 vil jeg med denne oppgaven gå systematisk gjennom de to tilstanden, og se på den genetiske bakgrunnen for disse. Jeg vil ta for meg hva man vet om MeCP2-proteinet i forhold til epigenetikk, og hvilken rolle dette har i sykdomsutviklingen. Videre vil jeg se på hva det kliniske bildet viser, og hvilke fenotypiske trekk de to syndromene deler. Da det også er interessant hva nyere forskning viser med hensyn til framtidsutsikter for behandling av de to sykdommene, er denne oppgaven delt inn i tre hovedproblemstillinger:

1) Hvordan ser det kliniske bildet ut ved RTT og MECP2ds, og hvilke fenotypiske særtrekk er delt av de to syndromene?

2) Hvilken rolle spiller MeCP2 proteinet i epigenetikk relativt til sykdomsutviklingen av RTT og MECP2ds?

3) Hva er fremtidsutsiktene for behandling av RTT og MECP2ds?

2. Metode

Jeg har valgt å gjøre et litteraturstudium med søk etter både oversiktsartikler og originalpublikasjoner. Det er gjort pyramidesøk i McMaster Plus, samt søk i PubMed/Medline, Ovid, Cochrane, og Google Scholar. Søkeordene som er brukt er

Rett syndrome

Rett syndrome AND MeCP2

Rett syndrome genetic*

Rett syndrome clinical

Rett syndrome treatment

MECP2 duplication syndrome

MECP2 duplication syndrome genetic*

MECP2 duplication syndrome clinical

MECP2 duplication syndrome treatment

Rett syndrome AND MECP2 duplication syndrome

MeCP2

MeCP2 AND epigenetic*

MeCP2-related disorders

Søkene er begrenset til å kun omfatte artikler som er utgitt på norsk eller engelsk. Det er gjort ulike tidsbegrensninger ved de ulike søkene, avhengig av hvor det kun var interessant med den aller nyeste forskning, og hvor det var nødvendig å begrense antall treff. Siste søk er gjort i august 2013. De artiklene som er vurdert til å være relevante for oppgaven ble plukket ut på abstrakt nivå. I tillegg er det gjort søk etter relevante artikler som det har vært referert til i artikler fra hovedsøket.

3. Resultat

3.1 RTT

Historien Bak RTT

RTT ble beskrevet første gang i 1966 av Andreas Rett som drev en barnelege praksis i Wien. Utgangspunktet for hans beskrivelse av RTT var at han observerte nærmest identiske vridende håndbevegelser hos to pasienter, som en dag satt samtidig på hans venteværelse. Han publiserte det kliniske bildet i et tidsskrift i Østerrike. Dette tidsskriftet hadde en begrenset leserkrets, og det var først i 1983 da en svensk barnelege ved navn Bengt Hagberg rapporterte 35 tilfeller av RTT i et engelskspråklig tidsskrift, at kunnskapen om syndromet ble allment kjent [Hagberg et al. 1983]. Den genetiske bakgrunnen for RTT var på dette tidspunktet ukjent.

RTT rammer ca 1 av 10 000 levende fødte jenter [Skjeldal et al, 1997; Amir et al. 1999]. Sykdommen opptrer sporadisk med unntak av noen svært sjeldne familiære tilfeller. Den kjønnssavhengige fenotypen kombinert med høy konkordans mellom monozygote tvillinger, samt de få familiære tilfellene, antydte tidlig at det dreide seg om en genetisk tilstand. Det ble postulert at RTT hadde en X-bundet dominant arvegang med fatal konsekvens for hemizygote gutter. Fordi RTT tilfellene hovedsakelig opptrer sporadisk var det vanskelig å identifisere sykdommens lokus. Studier av familiære tilfeller av RTT førte i 1999 til identifikasjon av mutasjon i MECP2 genet på region Xq28 på X-kromosomet som årsak til Rett syndrom.

RTT og Det Kliniske Bildet

Retts syndrom er en alvorlig utviklingshemning, som oppstår nesten utelukkende hos jenter [Chao et al. 2012]. Rett syndrom deles i to hovedklasser; Klassisk Rett Syndrom og Atypisk Rett syndrom [Neul et al. 2010]. Klassisk Rett syndrom er karakterisert av tilsynelatende normal utvikling de første 6-18 månedene av livet. Deretter følger en stagnasjon i utviklingen, og regresjon av allerede tilegnede ferdigheter.

Atypiske former av RTT kan være forårsaket av mutasjoner i andre gener, men også av mutert MECP2. Early-onset-seizure variant har noen ganger mutasjoner i genet CDLK5 gen, og har ett klinisk bilde karakterisert av debut av epileptiske anfall mellom første leveuke og 5 måneder [Artuso et al. 2010]. Kongenital variant med mutert FOXP1 gen, skiller seg fra

Klassisk RTT ved at sykdommen viser seg innen de første 6 måneder [Ariani et al. 2008]. Zapella variant er en annen atypisk form av RTT, der jentene gjenvinner noe språk etter regresjonen og får et generelt mildere uttrykk av typiske RTT-trekk. De fleste av disse jentene har mutert MECP2 gen [Renieri et al. 2009].

Fordi en mutasjon i MECP2 genet hverken er nødvendig eller tilstrekkelig for å gi diagnosen Rett syndrom, forblir det en klinisk diagnose der det er nødvendig å oppfylle en rekke diagnostiske kriterier [Neul et al. 2010]. Se Tabell 1: Diagnostiske kriterier RTT.

Tabell 1: Diagnostiske kriterier RTT

Klassisk RTT	En periode med regresjon, etterfulgt av bedring eller stabilisering	Oppfyller <i>alle hovedkriteriene</i> for sykdommen	Oppfyller <i>ingen av eksklusjonskriteriene</i>
Atypisk RTT	En periode med regresjon, etterfulgt av bedring eller stabilisering	Oppfyller <i>minst 2 av hovedkriteriene</i>	Oppfyller <i>minst 5 av de 11 støttekriteriene</i>
Hovedkriterier			
1)	Delvis eller fullstendig tap av ervervede målrettet håndferdigheter	2)	Delvis eller fullstendig tap av ervervet talespråk
3)	Gange-abnormaliteter: nedsatt (dyspraktisk), eller fravær av evne til å gå	4)	Stereotype håndbevegelser. Vridende / klemmende, klapping / tapping, hånd til munn, og/eller vaskebevegelser.
Eksklusjonskriterier			
1)	Hjerneskade sekundært til perinatale eller postnatale traumer, nevrometabolsk sykdom eller alvorlig infeksjon som fører til nevrologiske problemer	2)	Grovt unormal psykomotorisk utvikling i første seks månedene av livet
Støttekriterier			
1)	Pusteforstyrrelser i våken tilstand	2)	Tannskjæring i våken tilstand
3)	Svekket søvnmonster	4)	Unormal muskeltonus
5)	Vasomotoriske forstyrrelser perifert	6)	Skoliose / kyfose
7)	Vekstretardasjon	8)	Små kalde hender og føtter
9)	Latter- eller skrikeutbrudd	10)	Nedsatt smerterespons
11)	Intens kommunikasjon med øyne, peking med blikket		

En tilsynelatende normal psykomotorisk utvikling de første 6-18 månedene av livet er ett av diagnosekriteriene for RTT. Barnet når psykomotoriske milepæler som å sitte til normal tid, og de fleste rekker å lære å gå. En del av jentene rekker også å lære seg noen ord. [Chahrour et al. 2007]. Mellom 6-18 måneders alder stagnerer utviklingen og man ser en regresjon av allerede tilegnede ferdigheter, gjerne i følge med vekttap og dårlig holdning grunnet muskelhypotoni, samt en generell vekstretardasjon. Det er en nedbremsing av lineær vekst i løpet av de to første leveårene [Smeets et al. 2012]. Senere faller høyde og/eller vekt for høyde ofte under 2 standardavvik av det normale.

En av de første indikatorene på at noe ikke stemmer kan være deselerasjon av hodeomkretsen, som leder til mikrocefali innen andre leveår. Mikrocefali er imidlertid ikke noe som rammer alle RTT pasienter. Når sykdommen progredierer ser man tap av målrettet håndbruk (dyspraksi), og i stedet utvikles stereotype håndbevegelser. Midtlinje-bevegelser som er vridende eller vaskende er mest vanlig [Neul et al. 2010]. Bevegelsene er kun tilstedeværende i våken tilstand. Sosial tilbaketrekning og tap av språk blir tydelig, i tillegg til irritabilitet og selvskadende atferd [Smeets et al. 2012]. Videre følger tap av motorikk og koordinasjon, og utvikling av ataxi og gangapraksi. Utviklingen av RTT deles gjerne inn i faser.

Tabell 2: Utviklingen av RTT delt inn i faser.

Fase		Når i forløpet
I	Stagnasjon i utviklingen	6-18 mnd
II	Rask regresjon	1-4 år
III	Stasjonær fase	Når regresjon opphører
IV	Økende forringelse av motorikk	Vanligvis etter fylte 10 år

Den raske regresjonen man ser i 1-4 års alder er preget av økende autistisk atferd [Chahrour et al. 2007]. Rett syndrom er en av undergruppene av autisme spekterforstyrrelser. Svekket språk, stereotyp atferd, regresjon, angst, samt sosial tilbaketrekning er trekk som er felles for Rett syndrom og autisme. Andre autistiske trekk man kan se ved Rett syndrom er uttrykksløst ansikt, hypersensitivitet for lyder, manglende øyekontakt, og likegyldighet til miljøet rundt.

Mellom 5 og 10 års alder vil man som oftest se en bedring av den sosiale komponenten av den autistiske atferden.

Skoliose er vanlig hos RTT og utvikles gjerne under den stasjonære fasen. I en studie utført av Riise et al. fikk 87% av de 29 pasientene som var inkludert påvist skoliose ved radiologisk undersøkelse [Riise et al. 2011]. Forekomsten øker med alderen. Medvirkende er hypotoni, mangel på mobilitet og dystonisk assymetrisk holdning. Skoliosen kan være ha et raskt progressivt framløp, og kan kreve kirurgisk behandling [Smeets et al. 2012].

Den siste fasen er preget av økt stivhet, redusert bevegelighet, dystoni, hypomimikk, og bradykinesi. [Smeets et al. 2012]. Mange av pasientene mister evnen til å gå, og blir rullestol-avhengige. Andre fortsetter å gå langt inn i voksenlivet. Den kognitive funksjonen er stabil i denne fasen, og mellommenneskelig kommunikasjon kan fortsette å bedres. Det er bemerkelsesverdig at visuell kontakt og evnen til å peke med øynene, fortsatt er til stede selv i de mest alvorlige tilfellene. Det er viktig å anerkjenne dette, for å fremme kommunikasjon og deltakelse. Denne intense øyekontakten og øye-peke atferden, er svært karakteristisk for RTT forhold til andre alvorlig utviklingshemninger eller autistiske tilstander. Muntlig kommunikasjon blir aldri gjenvunnet.

Det er en høy forekomst av gastroøsofageal refluks hos jenter med RTT, og redusert intestinal motilitet som resulterer i obstipasjon [Smeets et al. 2012]. Kontroll av primære funksjoner som å tygge og svelge er ofte forsinket og problematisk. De fleste av jentene har redusert bevegelser av tungens midtre og posteriore deler, med prematur overføring av mat og væske fra munnen ned i svelget. På tross av dette har jenter med Rett syndrom normalt god appetitt, men på grunn av de overnevnte problemene er det mange som utvikler ernæringsmessige vansker. Derfor erfarer mange et økende vekttap med alderen [Chahrour et al. 2007]. Gastrostomi kan anlegges som ernæringsterapi for å avhjelpe dette [Motil et al. 2009].

Epilepsi forekommer hos de fleste pasienter med RTT [Dolce et al. 2013]. I en stor studie som inkluderte 528 pasienter i alderen åtte måneder til 64 år, ble følgende observasjoner ble gjort: 60% av 360 pasienter hadde epileptiske anfall rapportert av foreldre [Glaze et al 2010]. Frekvensen var lik for pasienter med klassisk og atypisk RTT. Men etter at den klinisk beskrivelse av anfall var vurdert av lege, var antallet som var affisert av epileptiske anfall

nede i 291 pasienter (48%). Forekomsten av epilepsi i RTT kan overvurderes fordi en del unormal atferd kan forveksles med epileptisk aktivitet, på tross av at det ikke er knyttet EEG-forandringer til disse hendelsene. Eksempler på dette er holding av pusten, hyperventilering, uopphørlig vridende håndbevegelser, absens-liknende frysing av aktivitet, skriking eller latter, og motorisk dysfunksjon. Ingen av pasientene hadde epileptiske anfall før fylte 2 år. Prevalensen økte med alder, fra ca 33% fra 2-5 års aler, til ca 86% ved 30 år eller eldre. Etter fylte 30 år, var det ingen økning i prevalens.

Epilepsien ofte behandlingsrefraktær, men rundt 50% av anfallene kan behandles med medisiner [Smeets et al. 2012]. Epilepsi som responderer dårlig på behandling er signifikant hyppigere hos jenter med åpenbare deselerasjon av hodevekst. EEG er vanligvis unormale ved RTT, men viser ikke et tydelig diagnostisk mønster. Vanlig EEG mønstre som ofte er sett i RTT inkluderer generalisert dysrytmi, monorytmiske theta bølger, og fokale og generaliserte spikes og sharp waves.

Omtrent 50 til 70 prosent av pasienter med RTT har kliniske funksjoner som indikerer dysfunksjon av det autonome nervesystemet, med økt sympatisk aktivitet [Smeets et al. 2012]. Disse inkluderer tilstedeværelsen av kalde, blå føtter og/eller hender, sikling og uregelmessig pust. De første tegnet på autonome forstyrrelser er hyperventilasjon i våken tilstand. I tillegg ser man ofte holding av pusten, aerofagi, presset utpust med spytt, og apne [Chahrouh et al. 2007]. Uregelmessig pust i våken tilstand som ikke er assosiert med epilepsi, er foruroligende både for jenta og for folk rundt henne [Smeets et al. 2012]. Dette reflekterer umodenhet av hjernestammen og kan lede til plutselig død. Lav hvilepuls og svake vagale reaksjoner på hyperventilering og holding av pusten, antyder en utilstrekkelig parasympatiske kontroll.

Pasienter med RTT har en høyere forekomst av forlenget QT-tid, og det er redusert variabilitet av hjerterefrekvensen [Smeets et al. 2012]. Personer med forlenget QT-tid, assosiert med et unormal pustemønster er spesielt utsatt for hjerterytmie. Den årlige forekomsten av plutselig, uventet død er høyere i RTT, enn i den generelle befolkningen (0,3 prosent, mot 0,0001 prosent for personer i alderen 1 til 22 år) [Sekul et al. 1994]. Mekanismen er tenkt å være ustabil elektrisk hjerteraktivitet, på grunn av unormal regulering av det autonome nervesystemet [Acampa et al. 2006].

Selv om hjertefeil kan disponere pasienter med RTT til plutselig død, er overlevelse godt inn i voksenlivet typisk. Denne konklusjonen støttes av en analyse av den nordamerikanske RTT

database bestående av pasienter med klassisk RTT (n = 1648) og atypisk RTT (n = 259) [Kirby et al. 2010]. Median overlevelse av pasienter med klassisk RTT var ca. 45 år. Overlevelse for personer med atypisk RTT var betydelig lengre enn for de med klassisk RTT. Levetiden til RTT pasienter er variabel, og noen pasienter kan overleve opp til 70 år [Chahrour et al. 2007].

RTT og Genetikk

Det finnes mutasjoner i MECP2 genet i mer enn 95% av tilfellene av klassisk RTT. RTT kan være forårsaket av et spekter av ulike mutasjoner i praktisk talt ethvert område i det X-linkede genet MECP2 [Chao et al. 2012]. Det er beskrevet missense-, nonsense- og rammeskiftmutasjoner med over 300 unike patogene nukleotidforandringer i MECP2 genet [Christodoulou et al. 2003]. Åtte ulike missense og nonsense mutasjoner står for ca 70% av alle mutasjonene, mens små C-terminale delesjoner står for ca 10%. Ytterligere 6% utgjøres av komplekse rearrangementer av genet [Chahrour et al. 2007]. En minoritet av pasientene med RTT har atypiske former av sykdommen forårsaket av mutasjoner i andre gener enn MECP2. Ett eksempel er RTT varianten kalt Early-onset-seizure, der genet CDLK5 er mutert [Artuso et al. 2010]. En annen RTT variant kalles Congenital, og har mutert FOXP1 gen [Ariani et al. 2008].

Mutasjonen av MECP2 genet skjer sporadisk i over 99% av tilfellene, og er som oftest de novo mutasjoner [Percy et al. 2010]. Ved de novo mutasjon er ikke mutasjonen tilstede hos noen av foreldrene, men har oppstått i en av kjønnscellene eller i det befruktede egget. MECP2 mutasjonen forekommer fortrinnsvis på det paternelle X-kromosomet [Trappe et al. 2001]. Mutasjonens paternelle opprinnelse kan forklare den høye kvinne-mann ratioen i RTT, og dermed være en mulig forklaring på hvorfor menn blir spart. De fleste pasienter med RTT har en tilfeldig X-inaktivering slik at den ene halvparten av alle cellene har maternell opprinnelse mens den andre halvparten har paternell opprinnelse. Det normale MECP2 allelet ser ut til å muliggjøre overlevelse for berørte kvinner, men beskytter ikke fra nevrologiske abnormaliteter. Tilfeldig inaktivering av X-kromosomet bidrar også til den fenotypiske variabiliteten i RTT [Amir et al. 1999].

Tidvis kan celler som uttrykker det normale MECP2 allelet dele seg raskere og overleve bedre enn celler som uttrykker det mutante MECP2 allelet [Chahrour et al. 2007]. Dette resulterer i

et ikke-tilfeldig mønster av X-kromosom inaktivering. Avhengig av omfanget av denne gunstige forskyvningen kan pasientene bli mildere affisert eller kun være asymptomatiske bærere. I sjeldne familiære tilfeller av RTT var mor enten bærer med ikke-tilfeldig X-kromosom inaktivering eller mosaikk av mutasjonen [Amir et al. 1999].

Med unntak av spesielle tilfeller som Klinefelter syndrom, der det er ett eller flere X-kromosomer for mange hos gutter, vil tilsvarende mutasjoner som gir RTT hos jenter resultere i alvorlig og dødelig neonatal encefalopati hos gutter [Villard et al. 2000].

Det er utført mange genotype-fenotype korrelasjonsstudier, og det er mulig å trekke noen generelle konklusjoner. Små studier har gitt relativt lite informasjon vedrørende genotype-fenotype korrelasjon, mens data fra studier som har evaluert store RTT databaser har antydnet at noen mutasjoner gir en mer alvorlig fenotype enn andre. For eksempel er C-terminale delesjoner assosiert med et mildere sykdomsforløp, mens nonsense mutasjoner tenderer å gi en mer alvorlig fenotype enn missense mutasjoner [Zhang et al. 2008]. Bebbington et al analyserte data fra to store databaser (Australian and Interett databases) der de så på 12 ulike kategorier av RTT mutasjoner [Bebbington et al. 2012]. De fant blant annet at store delesjoner gir mest alvorlig fenotype. Mindre enn halvparten av jentene som hadde en slik stor delesjon lærte noensinne å gå. Til sammenlikning hadde over to tredjedeler av de med andre patogene MECP2 mutasjoner evnen til å gå på et tidspunkt. De med store delesjoner var også mer utsatt for både mer alvorlig og tidligere utvikling av motorisk dysfunksjon, epilepsi, skoliose, stereotypiske håndbevegelser og abnormalt pustemønster.

MECP2 mutasjoner har bred overlappende fenotypisk variabilitet, noe som fører til at den prognostiske verdien for individuelle pasienter er begrenset. Cheadle et al. og Huppke et al. rapporterte at pasienter med samme mutasjon viser ulike fenotyper [Cheadle et al. 2000], [Huppke et al. 2000]. Dette indikerer at andre faktorer er medvirkende på sykdommens alvorlighetsgrad. Mønsteret av X-kromosom inaktivering er en viktig modulator av fenotype, noe som bekreftes av at kvinner som er bærer av mutasjonen har milde eller ingen symptomer [Amir et al. 2000], [Amir et Zoghbi, 2000]. Huppke et al. beskrev 3 jenter med svært mild form av RTT. Alle tre hadde forskjøvet X-inaktivering med ratio på 84:16, 95:5 og 76:24. Ingen av de tre møtte diagnosekriteriene for RTT [Huppke et al. 2006].

3.2 MECP2ds

Historien Bak MECP2ds

I 2005 ble en 430 kilobase lang duplikasjon som omfattet hele MECP2 lokuset på X-kromosomet identifisert i en gutt med hypotoni, mental retardasjon, mangel på tale, tap av målrettet bruk av hendene og stereotype håndbevegelser [Meins et al. 2005]. Videre ble det identifisert MECP2 genduplikasjoner i 4 pasienter etter en screening av 17 pasienter med mental retardasjon assosiert med progressiv spastisitet [Van Esch et al. 2005]. MECP2 duplikasjonen i hvert av de fire tilfellene varierte i lokalisasjon og størrelse. I hvert av tilfellene ble mor identifisert som asymptotisk bærer av duplikasjonen, og samtlige av disse kvinnelige bærerne viste en tilnærmet komplett forskyvning av X-inaktivering. Funnene antydte at ikke bare var det en svekket eller avskaffet MECP2-genfunksjon slik som i Retts syndrom som førte til sykdom, men at også en duplikasjon av MECP2 genet, og dermed en øket dosering av MeCP2 proteinet gav en distinkt fenotype.

Mange nye pasienter har blitt identifisert etter den første rapporten som klart rapporterte en årsakssammenheng mellom en duplikasjon av MECP2 genet og syndromet med alvorlig psykisk utviklingshemning. I tillegg har man forstått etiologien bak sykdommen i en del tidligere publikasjoner som beskrev en tilsvarende fenotype i rammede familier [Van Esch, 2012]. En sammenlikning av alle disse mannlige pasientene gav muligheten til å etablere en klinisk diagnose.

MECP2ds og Det Kliniske bildet

I 2010 var mer enn 100 individer med MECP2 duplication syndrome beskrevet, og en rekke fenotypiske trekk utgjør kjernen i syndromet [Ramocki et al. 2010]. Disse inkluderer: [Ramocki et al. 2010], [Prescott et al. 2009]

- Infantil hypotoni
- Milde dysmorfiske trekk (brachycephali, store ører, hypoplasi i midtansikt, underutviklet neserygg og økt hvelving i svelget)
- Forsinket psykomotorisk utvikling
- Alvorlig psykisk retardasjon
- Fraværende til minimal tale

- Fraværende eller begrenset evne til å gå selvstendig.
- Progressiv spastisitet der underekstremitetene er affisert i større grad enn overekstremitetene
- Ataksi
- Autisme eller autistiske trekk

Majoriteten av pasientene har også tilbakevendende infeksjoner, og partiell eller generalisert epilepsi [Van Esch, 2012]. Mange har i tillegg problemer i GI.tractus.

Som et resultat av aksial hypotoni blir motoriske milepæler som evne til å sitte uten støtte og krabbe, forsinket hos nesten alle barn med MECP2ds [Van Esch, 2012]. 3 av 4 oppnår evnen til å gå uten støtte, men de oppnår denne ferdigheten mye senere enn barn med normal motorisk utvikling (mellom 18 måneder og 4 år). Gangen er ofte ataktisk, og flere av guttene kompenserer ved å utvikle en lumbar hyperlordose. Omkring 80% utvikler ikke tale.

Pasienter med MECP2ds har ofte problemer med mild, moderat eller alvorlig forstoppelse, gastro-oesophageal reflux, økt risiko for aspirasjon og vanskeligheter med å svelge [Ramocki et al. 2010]. Dette sammen med hypotoni, kan gi ernæringsproblemer med utilfredsstillende vekt og vekst som følge (failure to thrive). Dette kan i noen tilfeller nødvendiggjøre nasogastrisk sondemating [Van Esch, 2012].

Utover de vekstforsinkelsene man ser som følge av ernæringsproblematikk er generelle vekstparametere og spesielt hodeomkrets er innenfor normalområdet, selv om hodeskallen ofte er assymetrisk grunnet langvarig hypotoni [Van Esch, 2012]. Hos 75% viker den medfødte hypotonien for spastisitet i løpet av barndommen. Spastisiteten er mer uttalt i underekstremitetene, og milde til alvorlige kontrakturer av hofte, kne og ankelledd kan utvikle seg over tid. Ofte kan det bli nødvendig med bruk av rullestol i tidlig voksen alder.

En klinisk studie som inkluderte 9 gutter med MECP2 duplication syndrome i alderen 3-15 år, viste abnormale bevegelser hos samtlige [Ramocki et al. 2009]. Disse bevegelsene inkluderte choreiforme bevegelser preget av intermitterende spontane vridende bevegelser i armer, hender, fingre, hodet eller tungen hos de fleste. Samtidig var stereotype håndbevegelser i midtlinjen tilstede hos alle de 9 som ble undersøkt.

Den samme studien viste at alle de 9 guttene hadde trekk som tilsvarte de man ser hos barn med idiopatisk autisme [Ramocki et al. 2009]. Dette inkluderte vanskeligheter med øyekontakt, manglende interaksjon, begrenset utvalg av ansiktsuttrykk, mange uvanlige sensoriske interesser og aversjoner, og repetitiv atferd. Angst var også utbredt blant de 9. Språket hos de av guttene som kunne snakke, bestod for det meste av repetitiv ordbruk. Denne atferden kan ikke kun forklares med signifikant kognitiv og språklig forsinkelse. Spedbarn når milepæler innen sosial kommunikasjon, som responsive smil, noe som ikke var tilfelle hos disse guttene. Majoriteten av pasientene som til nå er diagnostisert med MECP2ds, hadde allerede en autisme diagnose [Ramocki et al. 2010]. Dette har ofte vært årsaken til henvisning for videre utredning og genetisk testing. Til nå oppfyller alle pasienter diagnostisert med MECP2ds diagnosekriteriene for autisme.

Med økende alder vil mange av de berørte guttene oppleve en utviklingsmessig regresjon som viser seg som et tap av målrettet håndbruk, tale, selvhjelpsferdigheter og førlighet, men ingen av disse hadde en normal utvikling i forkant av regresjonen [Ramocki et al. 2009], [Van Esch 2012]. Tilbakevendende infeksjoner og behandlingresistent epilepsi kan være medvirkende faktorer til regresjonen, men den bakenforliggende fysiologiske eller molekylære årsaken forblir uklar [Van Esch. 2012].

Epilepsi er funnet hos 54% av pasientene med MECP2ds [Echenne et al. 2009]. Alder ved første anfall er svært variabel og hos noen pasienter de til syne først i 20 årene, så 54% kan være et underestimat. Generaliserte tonisk-kloniske anfall er oftest observert, men atoniske anfall, absenser, samt myoklone anfall har vært beskrevet. En del av pasientene responderte dårlig på medikamentell behandling. Det er sett at anfallsdebut og alvorlighetsgraden av anfallene korrelerer med nevrologisk forverring. De tonisk-kloniske anfallene var forbundet med demping av bakgrunnsaktivitet ved EEG, snarere enn generaliserte spike-waves eller polyspike-waves, som vanligvis observeres ved denne typen anfall

Hos 70% av de affiserte guttene ser man tilbakevendende infeksjoner [Van Esch, 2012]. Dette gjelder spesielt lufteisinfeksjoner, som ofte krever sykehusinnleggelse, intravenøs antibiotikabehandling og noen ganger respiratorbehandling. Hos noen få er det nødvendig med tracheostomi. Prescott et. al. beskrev i 2009 to brødre med MECP2ds. Mellom 6-18 måneders alder hadde begge hyppige infeksjoner som inkluderte otitis media, tonsillitter, pharyngitter og bronkiolitter [Prescott et al. 2009]. Den eldste av guttene gjennomgikk over 25 kurer med

antibiotika i løpet av sitt første leveår. Det er også beskrevet andre infeksjoner som meningitter og UVI hos gutter med MECP2ds. Spekteret av tilbakevendende infeksjonene kan bidra til en forverring av både generell og nevrologisk status [Van Esch 2012].

Sammen med refraktær epilepsi og svekket nevrologisk status, er alvorlige tilbakevendende infeksjoner medvirkende til signifikant redusert levealder [Van Esch, 2012]. Nesten 40% av de til nå rapporterte tilfellene har dødd før de har nådd 25 år, vanligvis grunnet luftveisinfeksjoner. Men fordi mange av pasientene som er beskrevet fortsatt er unge, er det vanskelig å gi et presist nummer på antall tidlige dødsfall før 25 år, og den statistiske sannsynligheten er trolig underestimert. Den eldste pasienten som er beskrevet er en mann på 45 år [Ramocki et al. 2010].

MECP2ds og Genetikk

Det har til nå ikke vært utført noen objektive studier for å vurdere insidensen eller prevalensen av MECPds i befolkningen, eller av bærere av mutasjonen. Noen relativt store studier gir likevel en viss innsikt. I en studie ble det funnet duplikasjon av MECP2 hos 1,6% av 122 mannlige pasienter med en nevrologisk utviklingsforstyrrelse, som var spesielt henvist med tanke på utredning av rearrangering av MECP2 genet [del Gaudio et al. 2006].

Det store flertallet av gutter med MECP2ds har arvet dupliseringen fra sin mor, men det er rapporterte tilfeller av de novo mutasjoner [Ramocki et al. 2010]. Syndromet følger en kjønnsbundet arvegang der en kvinne er bærer. 50% av hennes sønner rammes av tilstanden, og 50% av hennes døtre blir selv bærere. Syndromet er 100% penetrant hos de guttene som er rammet, men med variable fenotyper. De kvinnelige bærerne er asymptotiske grunnet en ekstrem forskyving av X-kromosom-inaktivering [Van Esch et al. 2005]. Selv om kvinnelige bærere typisk er asymptotiske viser nyere forskning at heterozygote kvinner på tross av normal intelligens, kan uttrykke en del nevropsykiatriske trekk som blant annet angst, depresjon og tvangshandlinger, oppstått før fødsel av et barn med MECP2ds [Ramocki et al. 2009]. Ved ufordelaktig forskyving av X-kromosom inaktivering hos kvinnelige bærere kan kvinner også i sjeldne tilfeller bli rammet av MECP2ds [Shimada et al. 2013].

MECP2ds er assosiert med duplikasjoner av et område på X-kromoset kalt Xq28, som inkluderer MECP2 genet [Smyk et al. 2008]. Størrelsen på de dupliserte områdene er oftest

submikroskopiske. Det vil si at de varierer mellom 300 kb og 4.2 Mb. Duplikasjonene er komplekse med områder av ikke-dupliserte sekvenser innenfor den dupliserte regionen [Van Esch 2012]. Tilnærmet alle duplikasjonene hos de til nå rapporterte pasientene varierer i størrelse og stopp-punkter [del Gaudio et al. 2006]. Ved duplikasjon av MECP2 lokus korrelerer ikke fenotypisk alvorlighetsgrad med duplikasjonens størrelse [Ramocki et al. 2009]. De fenotypiske kjennetrekke er veldig konsekvente blant de affiserte guttene.

De minste duplikasjonene som er funnet innebærer kun MECP2 genet og et gen kalt IRAK1(interleukin 1 reseptor-associated kinase), og dette er nok til å utvikle fenotypiske kjennetrekke [del Gaudio et al. 2006]. IRAK1 genet koder for en interleukin 1 reseptor-assosiert kinase, som er involvert i en transduksjonsvei med toll-like reseptorer, og denne transduksjonsveien er viktig for immunitet mot visse pyogene bakterier [Van Esch 2012]. IRAK1 genet ligger nær MECP2 og er duplisert hos nesten alle pasienter rapportert til dags dato. Involveringen av dette genet kan derfor være en mulig forklaring på de immunologiske problemene ved MECPDs.

Det er også blitt beskrevet en tredobling av MECP2 lokus, og det er verdt å merke seg at disse pasientene ser ut til å få mer alvorlige fenotyper enn de som observeres ved en duplikasjon. [del Gaudio et al. 2006], [Tang et al. 2012]. Det faktum at pasienter med triplikasjon av MECP2 genet har en dårligere prognose viser at MECP2 nivået åpenbart korrelerer med alvorlighetsgrad.

3.3 Epigenetikk og MeCP2 Protein

Epigenetikk er studiet av stabile og varige endringer i genuttrykk som følge av mekanismer som ikke involverer endringer i selve DNA-sekvensen. Epigenetiske mekanismer, som for eksempel DNA metylering og histonmodifikasjoner, kan enten aktivere eller undertrykke gentranskripsjon. De epigenetiske modifikasjonene som utgjør epigenomet er strengt regulert. Epigenomet er ansvarlig for å samkjøre utallige transkripsjonsfaktorer, samt kontroll av celleidentitet og morfologi.

Epigenetikk spiller en nøkkelrolle bak etiologien til mange menneskelige sykdommer, og genet MECP2 er et av de mest studerte gener for å koble epigenetikk til human sykdom. MECP2 mutasjoner fører til Retts syndrom, men er også forbundet med et bredt spektrum av andre nevrologiske lidelser [Jakovcevski et al. 2012], [Zachariah et al. 2012].

Methyl-CpG-binding protein 2 (MeCP2) tilhører metyl-binding domain proteinfamilien. MeCP2 proteinet er en transkripsjonsfaktor som kontrollerer genuttrykk, og er en viktig epigenetisk faktor i utvikling og opprettholdelse av sentralnervesystemet [Na et al. 2013]. MeCP2 proteinet fungerer som en transkripsjonsrepressor der den binder til metylerte CpG-dinukleotider og rekrutterer et ko-repressor kompleks slik at kromatinstrukturen endres. [Moretti et al. 2006].

Ett av genene som er assosiert med MeCP2 proteinet er ett protein med navn Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) [Na et al. 2011]. I nervekulturer binder MeCP2 til BDNF genet sin promoter og undertrykker dennes transkripsjon. BDNF er en vekstfaktor som blant annet er involvert i nevrogenese, modning og overlevelse av nerveceller, og synaptisk plastisitet.

MeCP2 proteinet er tilstede overalt, men spesielt rikelig i hjernen [Amir et al. 1999]. Museforsøk har vist at MeCP2 først uttrykkes i ryggmargen og hjernestammen rundt dag 12 av den embryonale perioden [Shahbazian et al. 2002]. Deretter uttrykkes proteinet fortløpende i thalamus, caudate putamen, lillehjernen, hypothalamus, hippocampus og videre til de dypere lagene av hjernebarken, før det tilslutt sprer seg ut til mer overfladiske lag innen dag 18.

Mengden MeCP2 protein øker i løpet av cellulær differensiering og videre fra tidlig postnatal utvikling og inn i voksenlivet, der uttrykket av MeCP2 er høyt i nevroner i hele hjernen.

Både underekspresjon og overekspresjon av MeCP2 har ødeleggende effekt på dendrittisk morfologi, og synaptisk plastisitet [Na et al. 2013]. Tap av MeCP2 funksjon og overekspresjon av MeCP2 utløser diametrisk motsatte forandringer i synaptisk transmisjon. Dette er funn som indikerer at presis regulering av MeCP2-uttrykket i den embryonale perioden og videre i utviklingen, er en nødvendighet for normal utvikling og funksjon av nervesystemet.

3.4 Behandling – nå og i framtiden

Behandling av RTT og MECP2ds dreier seg om å behandle de to syndromenes medfølgende tilstander. Ved både RTT og MECP2ds viser det seg et spekter av ulike problemer som gjør det nødvendig med målrettet behandling av de ulike symptomene. Ved tidlig intervensjon og en livslang tverrfaglig tilnærming, kan man bedre pasientenes livskvalitet.

Ved RTT er første skritt å få en bekreftelse av diagnosen. Det er ofte en lettelse for familiene å få en forklaring, men også starten på en sorgprosess over tapet av et friskt barn. Grunnet problemer med autonom dysfunksjon som i verste fall kan gi pustestans eller hjertestans hos jentene, er det fordelaktig for foreldre til et barn med RTT å ha opplæring i hjerte-lunge redning.

Når et barn har fått diagnosen Rett syndrom, bør det undersøkes med EKG. Ved forlenget QT-tid er det nødvendig med vurdering av kardiolog. Det er ingen kjent behandling for pustestans i våken tilstand. Vekt og vekst krever nøye oppfølging, og det er viktig med en kaloririk og godt balansert diett. Videofluoroskopi kan være nødvendig for å vurdere oromotor-funksjon, og ved oppkast eller irritabilitet bør reflux og forsinket gastrisk tømming vurderes. Problemer med forstoppelse kan kreve daglig medikamentell profylakse. Det er viktig med EEG monitorering for å vurdere epileptisk aktivitet, spesielt fordi det kan være vanskelig å skille epileptisk aktivitet fra avvikende atferd som følger syndromet på klinisk grunnlag. Ved behandlingsrefraktær epilepsi kan en ketogen diett [Liebhaber et al. 2003] eller vagusnerve-stimulering være fordelaktig [Wilfong et al. 2006]. Kommunikasjons-terapi kan forbedre jentenes evne til å kommunisere, og fysioterapi er viktig for å opprettholde balanse og gangevne så lenge som mulig, samt å forebygge kontrakturer og deformiteter som følge av spastisitet [Hanks, 1990]. Utvikling av skoliose kan være et svært alvorlig problem for pasienter med RTT. Hva som er optimal behandling av skoliose ved RTT er usikkert, men retningslinjene anbefaler livslang tilnærming som starter før utvikling av skoliose, og som inkluderer både medisinske og kirurgiske eksperter [Downs et al. 2009].

Pasienter med MECP2ds bør monitoreres allerede fra fødsel, spesielt med tanke på ernæring og svelgeproblematikk [Van Esch. 2012]. Dette for å forebygge aspirasjonspneumoni og underernæring. Grunnet de mange nevrologiske problemene er det viktig med evaluering,

behandling og oppfølging av barne-nevrolog og spesialister innen rehabilitering. Fysioterapi, og stimulering av tale og kommunikasjon er svært viktig, og må tilpasses individuelt. Økende spastisitet hos disse guttene kan gi kontrakturer sekundært. Hos noen kan det være aktuelt å vurdere bruk av botulinum toxin for å avhjelpe dette. For optimal behandling med antiepileptika er det nødvendig med kartlegging av epileptisk aktivitet gjennom grundig anamnese og EEG. Forverring av nevrologiske symptomer og regresjon er vanligst i gruppen med behandlingsrefraktær epilepsi. Da disse guttene er disponert for tilbakevendende og potensielt livstruende infeksjoner, er det grunnlag for rask og aggressiv antibiotikabehandling. Det kan være nødvendig med sykehusinnleggelse og eventuelt ventilasjonshjelp.

Det finnes altså kun symptomatisk og ingen helbredende behandling for hverken RTT eller MECP2ds. I framtiden er det håp å finne behandlingsmetoder som er rettet mot sykdommens årsak. MeCP2 proteinets rolle som transkripsjonsfaktor tyder på at feilregulering av målgenet nedstrøms for denne kan ligge til grunn for RTT og MECP2ds [Na et al. 2013]. Dersom man kan identifisere hvilke molekulære og cellulære mekanismer som er forbundet med alterasjoner i MeCP2-uttrykket, kan det på lang sikt gi en utvikling av lovende legemidler til behandling av RTT og MECP2ds.

4. Diskusjon og Konklusjon

4.1 Hvordan ser det kliniske bildet ut ved RTT og MECP2ds, og hvilke fenotypiske særtrekk er delt av de to syndromene.

RTT og MECP2ds er to syndromer med mange forskjeller. I all hovedsak er det slik at RTT rammer jenter og MECP2ds rammer gutter. RTT oppstår som følge av en deleksjon av MECP2 genet, der MECP2ds er forårsaket av en duplikasjon av det samme genet. RTT oppstår i all hovedsak fra de novo mutasjoner, mens MECP2ds følger en kjønnsbundet arvegang. RTT viser en tilsynelatende normal utvikling den første levetiden, mens barn med MECP2ds har et symptom bilde med infantil hypotoni fra fødsel. De to syndromene har fenotypiske trekk som tydelig skiller de fra hverandre. RTT er for eksempel preget av vekstavvik og autonome forstyrrelser, mens MECP2ds er alene om å vise dysmorphe trekk og tilbakevendende infeksjoner.

Forsøk med mus har vist at en relativ mangel eller overskudd av MeCP2-nivåer fører til overraskende lik atferd og nevrologiske fenotyper, som angst, kognitiv svikt og svekket motorikk og koordinasjon [Na et al. 2013]. Dersom man sammenlikner det fenotypiske bildet ved RTT og MECP2ds hos mennesker, ser man at det er bemerkelsesverdig mange likhetstrekk mellom de to syndromene. Se tabell 3.

Tabell 3: En svært forenklet sammenlikning av en del fenotypiske trekk ved RTT og MECP2ds.
+ viser at trekket er eller kan være gjeldende ved det aktuelle syndromet. – viser at trekket ikke er tilfelle ved det aktuelle syndromet.

	RTT	MECP2ds
MECP2 mutasjon	Delesjon	Duplikasjon
MeCP2 avvik	Loss-of-function	Gain-of-function
Psykomotorisk utvikling	Normal til 6-18 mnd alder	Avvikende fra fødsel
Redusert/fraværende taleevne	+	+
Motorisk dysfunksjon	+	+
Ataksi	+	+
Infantil hypotoni	-	+
Spastisitet	+	+
Kognitiv svikt	+	+
Regresjon	+	+
Stereotypier	+	+
Vekstavvik	+	-
Autisme	+	+
Epilepsi	+	+
Problemer i GI-tractus	+	+
Autonome forstyrrelser	+	-
Tilbakevendende infeksjoner	-	+
Skoliose	+	-
Dysmorfe trekk	-	+
Redusert hodeomkrets	+	-
Diagnose	Klinisk	Molekylær

Avvikende psykomotorisk utvikling og motorisk dysfunksjon er felles for de to syndromene, på tross av senere symptomdebut ved RTT. Talespråket er fraværende til minimal i begge gruppene. Både RTT og MECP2ds er affisert av fraværende eller begrenset evne til å gå, og er preget ataksi og spastisitet. Den autistiske komponenten er sterk i begge gruppene, og epilepsi er svært vanlig hos begge. Det samme gjelder gastrointestinal dysfunksjon.

Trekk som er typiske for RTT som tap av målrettet bruk av hendene og stereotypiske håndbevegelser er ved flere anledninger blitt beskrevet hos gutter med duplikasjon av MECP2 genet [Meins et al. 2005], [Prescott et al. 2009].

Regresjon av utviklingen, med tap av allerede tilegnede ferdigheter innen språk og motorikk er en av hovedkriteriene for å kunne gi diagnosen RTT. Peters et al. Gjorde en studie der de tok for seg regresjon ved MECP2ds. De fant at 9 av 17 gutter viste tap av språk- og/eller motor-ferdigheter [Peters et al. 2013]. I noen av tilfellene ble perioden med regresjon etterfulgt av bedring av funksjon. De fant ikke samsvar mellom regresjon og størrelsen av MECP2 duplikasjonen hos de affiserte guttene. Det er uklart om regresjon er et fenotypisk kjernetrekk ved MECP2ds som oppstår som en direkte følge av overekspresjon av MeCP2 proteinet, eller om regresjonen er indirekte relatert til overekspresjon av MeCP2 gjennom bland annet infeksjoner og epileptisk aktivitet. Regresjon ser ut til å oppstå senere ved MECP2ds enn ved RTT.

Dersom man ser MECP2ds i lyset av de diagnostiske kriteriene for RTT (se tabell 1.), kan dermed en del av disse guttene oppfylle alle hovedkriteriene for RTT. Men fordi de også oppfyller et av eksklusjonskriteriene som er grovt unormal psykomotorisk utvikling de første 6 månedene av livet, kan de ikke oppfylle diagosekriteriene for klassisk RTT. Ved atypiske former av RTT kan man likevel se unormal psykomotorisk utvikling den første levetiden. Støttekriteriene disse pasientene må oppfylle er derimot ikke spesielt beskrivende for MECP2ds. Dermed kan man konkludere med at på tross av en del liknende fenotypiske trekk, gir for mye og for lite av MeCP2-proteinene to ulike syndromer.

4.2 Hva er den epigenetiske betydningen av MeCP2 proteinet i sykdomsutviklingen av RTT og MECP2ds?

Studier av hjernens epigenom gir ny og enestående innsikt i mekanismene for nevrologisk utvikling og sykdom [Zachariah et al. 2012]. Epigenetiske mekanismer har viktige roller i hjernens utvikling, synaptisk plastisitet, samt innvirkning på atferd, læring og hukommelse [Na et al. 2013]. Forskning underbygger nå den funksjonelle betydningen av MeCP2 som epigenetisk faktor, i utvikling og opprettholdelse av sentralnervesystemet, og reguleringen av den synaptiske plastisitet.

Fellestrekkene ved nevrologiske sykdommer hos mennesker som er forårsaket av enten tap av- eller øket MeCP2 funksjon, antyder at selv små endringer i nivået av MeCP2-proteinet resulterer i utviklingsmessige nevrologiske problemer. For å avgjøre om en liten reduksjon i nivået av MeCP2 proteinet har fenotypiske konsekvenser er det blitt gjort dyreforsøk der mus var modifisert til å uttrykke 50% av normalt nivå av MeCP2. Atferdsanalyser viste at mus som var bærer av det aktuelle allelet viste et spekter av abnormaliteter ved blant annet innlæring, motorikk, angstnivå, og sosial atferd [Samaco et al. 2008].

I en av de vanligste mutasjonene assosiert med RTT er aminosyren Treonin 158 konvertert til aminosyren Metionin eller Alanin i MeCP2 proteinet, og kalles T158A mutasjon. Et forsøk med knockin mus med MeCP2 T158A mutasjon gav MeCP2 proteiner med redusert bindingsevne til metylert DNA og redusert stabilitet [Goffin et al. 2011]. Musene viste en fenotype som liknet den i MeCP2-null mus med utviklingsmessig regresjon, motorisk dysfunksjon og problemer med læring og hukommelse, men med en noe mindre alvorlig form. Proteinets ustabilitet førte til en 40-50% reduksjon av MeCP2 nivået i de MeCP2 T158A muterte musene, noe som er sammenlignbart med reduksjonen observert i musene som var modifisert til å uttrykke 50% av normalt nivå av MeCP2. Til tross for tilsvarende reduksjoner i MeCP2 protein nivå, viste MeCP2 T158A musene en mer alvorlig fenotype. Dette tyder på at et T158A allel fører til tap av MECP2 funksjon utover det som er forårsaket av reduserte nivåer av proteinet.

Collins et al. genererte transgene mus med overekspresjon av humant MeCP2 protein. Ulike linjer av musene uttrykte ulikt proteinnivå, og fenotypisk alvorlighetsgrad samt tidlig dødelighet korresponderte med økt proteinnivå [Collins et al. 2004].

Disse og andre museforsøk viser at RTT-liknende trekk kan oppstå som følge av mutasjoner som endrer proteinstrukturen til MeCP2, men også tap av uttrykk, underekspresjon eller overekspresjon av proteinet. Alvorlighetsgraden av det fenotypiske uttrykket avhenger av både nivået og funksjonen av MeCP2 [Chao et al. 2012].

Retts syndrom og MECP2ds oppstår som følge av endringer i uttrykket av MeCP2 der Rett syndrom er et resultat av loss-of-function, og MECP2ds er et resultat av gain-of-function. Dyreforsøk har vist at cellulære prosesser som er involvert i læring og hukommelse, samt cellemorfologi og neurotransmisjon, forstyrres som et resultat av loss-of-function eller gain-of-function. Funksjonen MeCP2 har i det epigenetiske maskineriet er komplekst, og det er usikkert hvilke mekanismer som er årsaken til den nevrologiske dysfunksjonen som viser seg i RTT og MECPds. Pågående forskning stiller spørsmål med hensyn til om tapet av MECP2 resulterer i nevrologisk funksjonsfeil under utvikling og modning av nervesystemet, eller om MeCP2 kanskje har en mer fundamental rolle i opprettholdelsen av synaptiske forbindelser [Na et al. 2013].

Pasienter med Retts syndrom viser en normal periode med utvikling før symptomdebut for deretter å gjennomgå en periode med tilbakegang. Dette tyder på at MeCP2 proteinet kan spille en mer funksjonell rolle i tidlig postnatal utvikling, snarere enn under embryonale perioder [Na et al. 2011]. Denne antakelsen kan støttes av at mengden MECP2 protein som uttrykkes i cellene øker fra tidlig postnatal utvikling og inn i voksenlivet [Shahbazian et al. 2002]. Det er gjort studier der grundig gjennomgang av videomateriale viser at en rekke uspesifikke symptomer og tegn likevel kan være tilstedeværende de første 6 månedene av livet hos pasienter med RTT [Einspieler et al. 2005]. Selv om RTT er en postnatal og progressiv lidelse, kan konsekvensene av MeCP2 mangel muligens starte allerede før fødsel [Zachariah et al. 2012].

Til tross for at MECP2 ble oppdaget for 20 år siden, er vår nåværende kunnskap om proteinets molekylære funksjon ikke fullstendig. Spørsmål som gjenstår å bli besvart er blant annet om ulike isoformer av MeCP2 proteinet gir ulikt uttrykk eller funksjon i sentralnervesystemet,

hvilke faktorer som regulerer MeCP2 ekspresjon og spleising i de ulike vevstypene. Det er dessuten ukjent om MeCP2 gjenkjenner spesifikke områder av genomet, eller om det binder uspesifikt til metylert DNA. MeCP2 viste seg opprinnelig å være en repressor som binder metylert DNA, og samhandler med ko-repressorer for å hemme og skru av spesifikke gener. Nyere studier har likevel vist at MeCP2 kan fungere enten som en aktivator eller en repressor, avhengig av interagerende proteiner og målgener [Zachariah et al. 2012]. I tillegg antyder nyere forskning at MeCP2 proteinet også kan spille en rolle i RNA spleising [Na et al. 2013]. Dette omfanget av MeCP2 proteinets mulige funksjoner indikerer et komplekst utvalg av ulike mekanismer som kan lede til den nevrologiske dysfunksjon man ser ved RTT og MECP2ds.

Mer kunnskap som kan besvare spørsmålene rundt MeCP2 proteinet og dets funksjon er viktig for å forstå hvordan forstyrrelser av MECP2 genet kan gi syndromer som RTT og MECP2ds.

4.3 Hvordan ser framtidsutsiktene ut for behandling for RTT og MECP2ds?

Pasienter med RTT viser abnormal nervemorfologi, men ikke nervedød. Dette indikerer at sykdommen ikke er en nevrodegenerativ lidelse, men en sykdom som affiserer utviklingen av nervesystemet [Guy et al. 2007]. Dette har ført til spørsmålet om skaden som er forårsaket av en nerveutvikling uten tilstedeværelsen av normal MeCP2 er reversibel. I RTT mus som mangler MeCP2 kan reaktivering av MECP2 genet etter sykdomsutbrudd reversere det patologiske fenotypiske uttrykket. Forsøk har vist at aktivering av MeCP2 uttrykket fører til et slående tap av avanserte nevrologiske symptomer i både umodne og modne voksne dyr. Dette demonstrerer muligheten for at strategier for genterapi faktisk kan forbedre symptomene ved RTT.

Det er utviklet MECP2 isoform-spesifikke retrovirale vektorer for genterapi, som har gitt effektiv og langsiktig ekspresjon av MeCP2 i nervevev in vitro [Rastegard et al. 2009], [Zachariah et al. 2012]. Hvilken effekt disse virusene har in vivo er imidlertid ikke klarlagt. Ett av de kritiske punktene ved utformingen av en strategi for RTT genterapi er å forebygge MECP2 overekspresjon, fordi overuttrykk av MeCP2 kan føre til en fenotype som ved MECPds.

Et alternativ er medikamentell behandling designet for å målrette proteiner, som kan kompensere for MeCP2 tapet i nervecellene. Tropea et al, 2009 viste at systemisk behandling av en RTT musmodell med det aktive peptidfragmentet av IGF1 forlenget den totale levetiden, og betydelig forbedret mange av de patologiske fenotypene [D. Tropea et al. 2009]. Musene viste forbedret motorisk funksjon, og normalisering av pustemønster og hjerterytme.

Marchetto et al gjorde et forsøk der nevroner med MeCP2 mutasjoner ble generert fra induerte pluripotente stamceller, som var derivert fra fibroblaster isolert fra pasienter med RTT [Marchetto et al. 2010]. Disse cellene var i stand til å gjennomgå X-inaktivering og generere funksjonelle nevroner. Nevronene hadde færre synapser, redusert tetthet av spinae, og mindre soma. Sammenliknet med kontroller viste de også en endring i kalsium-signalisering og elektrofysiologiske defekter, som spesielt omfattet glutamat signalveier.

Funnene indikerer at nevronene hos pasienter med RTT har defekter tidlig i utviklingen. Medikamentell behandling av disse cellene med IGF1 og gentamicin viste noen lovende resultater. IGF1 behandling gav et økt antall synapser, men RTT nevronene ble stimulert til over normalt nivå. Gentamicin var i stand til å gjenopprette MeCP2 nivåer i nevroner som var bærer av en nonsense MeCP2 mutasjon. Dette fordi medikamentet muliggjør delvis read-through, og dermed uttrykk av protein i tilfeller av en MECP2 nonsense mutasjon.

Undersøkelse av MeCP2 muterte mus har ført til en hypotese om at MeCP2 mangel fører til avvikende modning og vedlikehold av synapser og signalkretser i flere deler av hjernen [Castro et al. 2013]. En del av denne svikten oppstår som følge av endringer i bestemte intracellulære signalveier (som PI3K/Akt signalveien). Disse avvikene har vist seg delvis gjenopprettet i MeCP2 muterte mus etter behandling med blant annet IGF1. Men de komplekse virkningsmekanismene til MeCP2 proteinet, gjør det lite sannsynlig at det er nok å terapeutisk angripe ett målområde, for å gjenopprette fysiologiske funksjoner i Rett syndrom pasienter. Det er derfor nødvendig å identifisere en kombinasjon av terapeutiske tilnærminger, som kan studeres i musemodeller.

En annen interessant tilnærming er vist av Casas-Delucchi et al, som nylig har utviklet molekylære verktøy som muliggjør målrettet manipulering av heterokromatin regioner, der de har målrettet Rett mutanter med mangelfull MeCP2 kromatin binding [Casas-Delucchi et al. 2012]. Forsøket viste evne til å gjenopprette reorganisering av høyere orden av kromatin.

Forskning for å få en økt forståelse hvilken funksjon MeCP2 proteinet har i de ulike delene av nervesystemet, og dermed hvilken rolle det spiller i patogenesen av MECP2ds og Retts syndrom, er viktig for å kunne finne fram til behandlinger som kan omgå proteinets funksjon, og dermed lette symptomene forbundet med sykdommene.

Det foregår intens forskning på området for å finne medikamentell og annen terapi som potensielle behandlingsmetoder for sykdommer relatert til forstyrrelser av MeCP2 proteinet. Behandling av RTT symptomatologi er det området innen feltet som er mest adressert, og man har bare så vidt begynt å skrape i overflaten av mulighetene som finnes. Medikamenter som IGF1 og Gentamicin kan være lovende som terapi rettet mot tidlige stadier av utviklingen i Retts syndrom, da de kan dempe konsekvensene av MECP2 mutasjoner [Marchetto et al. 2010], [Castro et al. 2013] Men å gjenopprette proteinnivået er en utfordring, da et overskudd

av MeCP2 kan være vel så skadelig som tap av uttrykk. Det er fortsatt en vei å gå før medikamenter som disse kan forsøkes i kliniske studier. Det må utvikles medikamenter med redusert toksisitet, og behandlingsmetode og medikamentdoser må finjusteres for å unngå bieffekter.

For pasienter med MECP2ds er tilbakevendende infeksjoner et alvorlig problem [Ramocki et al. 2010]. Det er nødvendig med videre forskning for å få en økt forståelse av patofysiologien ved immunsvikt hos individer med MECP2ds, da man kanskje kan finne behandlingsmetoder for å redusere sykkeligheten og dødeligheten som er forbundet med de tilbakevendende infeksjonene hos disse guttene.

Inntil videre finnes det ingen helbredende behandling av MECP2ds eller RTT. I påvente av et gjennombrudd der behandling kan rettes mot sykdommenes årsak, må pasienter og klinikere forholde seg til konservativ behandling av de medfølgende tilstandene. En livslang og tverrfaglig tilnærming er nødvendig.

5. Ordliste

Allel: variant av gen som befinner seg på samme locus

DNA-metylering: En postsyntetisk modifikasjon av DNA som hemmer gentranskripsjon.

Gentamicin: antibiotikum i aminoglykosidgruppen.

Hemizygot: betegnelse som brukes om arveanlegg på X-kromosomet hos menn. Siden menn bare har ett X-kromosom, kan de verken være homozygote eller heterozygote for slike arveanlegg.

Heterokromatin: Heterokromatin er de regionene av kromosomene som forblir tett sammenfoldet gjennom hele celsesyklusen. Disse områdene er lite tilgjengelige for avlesning av gener.

Histoner: Histoner, gruppe av proteiner som finnes i cellekjernen bundet til DNA. Histonene fungerer dels ved å pakke inn og beskytte DNA mot mekanisk skade, og dels ved å regulere aktiviteten av de enkelte gener.

IGF1: Insulinliknende vekstfaktor 1. Et polypeptid som frigjøres fra ulike celler i kroppen under påvirkning av veksthormon.

Knockin-mus: En type målrettet mutasjon i hvilket en endring i gen-funksjon er produsert ved å legge til eller erstatte genetisk materiale

Konkordans: i genetikken prosentvis samsvar mellom tvillinger med hensyn til en egenskap eller sykdom. Dersom konkordansen er hyppigere hos eneggede enn hos toeggede tvillinger, taler det for at egenskapen/sykdommen er arvelig influert eller betinget

Kromatin: komplekset av DNA og proteiner i cellekjernen

Locus: plass på et kromosom. Et gitt gen (arveanlegg) inntar alltid samme plass på et bestemt kromosom, og denne plassen kalles genets locus.

MeCP2-null mus: Mus med slått ut MECP2 gen.

Missense mutasjon: Mutasjon som gir annen aminosyre og dermed endrer proteinet genet koder for.

Nonsense mutasjon: Mutasjon som gir stopp i gensekvensen, og dermed et altfor kort protein.

Rammeskift mutasjon: når insersjon eller delesjon av én base gir nye aminosyrer i resten av proteinet

Retrovirale vektorer: verktøy som brukes for å levere genetisk materiale inn i cellers DNA, enten i levende organisme (in vivo) eller i cellekulturer (in vitro). Består av virus som har utviklet spesialiserte molekylære mekanismer for å effektivt transportere sitt genmateriale inn i cellene de infiserer.

6. Kildehenvisninger

Acampa M, Guideri F. Cardiac disease and Rett syndrome. Arch Dis Child. 2006 May;91(5):440-3.

Amir RE, Van den Veyver I B, Wan M, Tran C Q, Francke U, Zoghbi, H Y. 1999. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. Nat Genet. 1999 Oct;23(2):185-8.

Amir RE, Van den Veyver IB, Schultz R, Malicki DM, Tran CQ, Dahle EJ, Philippi A, Timar L, Percy AK, Motil KJ, Lichtarge O, Smith EO, Glaze DG, Zoghbi HY. Influence of mutation type and X chromosome inactivation on Rett syndrome phenotypes. Ann Neurol. 2000 May;47(5):670-9.

Amir RE, Zoghbi HY. Rett syndrome: methyl-CpG-binding protein 2 mutations and phenotype-genotype correlations. Am J Med Genet. 2000 Summer;97(2):147-52.

Ariani F, Hayek G, Rondinella D, Artuso R, Mencarelli MA, Spanhol-Rosseto A, Pollazzon M, Buoni S, Spiga O, Ricciardi S, Meloni I, Longo I, Mari F, Broccoli V, Zappella M, Renieri A. FOXP1 is responsible for the congenital variant of Rett syndrome. Am J Hum Genet. 2008 Jul;83(1):89-93

Artuso R, Mencarelli MA, Polli R, Sartori S, Ariani F, Pollazzon M, Marozza A, Cilio MR, Specchio N, Vigeveno F, Vecchi M, Boniver C, Dalla Bernardina B, Parmeggiani A, Buoni S, Hayek G, Mari F, Renieri A, Murgia A. Early-onset seizure variant of Rett syndrome: definition of the clinical diagnostic criteria. Brain Dev. 2010 Jan;32(1):17-24

Bebbington A, Downs J, Percy A, Pineda M, Zeev BB, Bahi-Buisson N, Leonard H. The phenotype associated with a large deletion on MECP2. Eur J Hum Genet. 2012 Sep;20(9):921-7

Casas-Delucchi CS, Becker A, Bolius JJ, Cardoso MC. Targeted manipulation of heterochromatin rescues MeCP2 Rett mutants and re-establishes higher order chromatin organization. Nucleic Acids Res. 2012 Dec;40(22)

Castro J, Mellios N, Sur M. Mechanisms and therapeutic challenges in autism spectrum disorders: insights from Rett syndrome. Curr Opin Neurol. 2013 Apr;26(2):154-9

Chahrouh M, Zoghbi HY. The story of Rett syndrome: from clinic to neurobiology. *Neuron*. 2007 Nov 8;56(3)

Chao HT, Zoghbi HY. MeCP2: only 100% will do. *Nat Neurosci*. 2012 Jan 26;15(2):176-7

Cheadle JP, Gill H, Fleming N, Maynard J, Kerr A, Leonard H, Krawczak M, Cooper DN, Lynch S, Thomas N, Hughes H, Hulten M, Ravine D, Sampson JR, Clarke A. Long-read sequence analysis of the MECP2 gene in Rett syndrome patients: correlation of disease severity with mutation type and location. *Hum Mol Genet*. 2000 Apr 12;9(7):1119-29.

Christodoulou J, Grimm A, Maher T, Bennetts B. RettBASE: The IRSA MECP2 variation database-a new mutation database in evolution. *Hum Mutat*. 2003 May;21(5):466-72.

Collins AL, Levenson JM, Vilaythong AP, Richman R, Armstrong DL, Noebels JL, David Sweatt J, Zoghbi HY. Mild overexpression of MeCP2 causes a progressive neurological disorder in mice. *Hum Mol Genet*. 2004 Nov 1;13(21):2679-89.

Dolce A, Ben-Zeev B, Naidu S, Kossoff EH. Rett syndrome and epilepsy: an update for child neurologists. *Pediatr Neurol*. 2013 May;48(5):337-45.

Downs J, Bergman A, Carter P, Anderson A, Palmer GM, Roye D, van Bosse H, Bebbington A, Larsson EL, Smith BG, Baikie G, Fyfe S, Leonard H. Guidelines for management of scoliosis in Rett syndrome patients based on expert consensus and clinical evidence, *Spine (Phila Pa 1976)*. 2009 Aug 1;34(17)

Echenne B, Roubertie A, Lugtenberg D, Kleefstra T, Hamel BC, Van Bokhoven H, Lacombe D, Philippe C, Jonveaux P, de Brouwer AP. Neurologic aspects of MECP2 gene duplication in male patients. *Pediatr Neurol*. 2009 Sep;41(3):187-91.

Einspieler C, Kerr AM, Prechtl HF. Is the early development of girls with Rett disorder really normal? *Pediatr Res*. 2005 May;57(5 Pt 1):696-700

del Gaudio D, Fang P, Scaglia F, Ward PA, Craigen WJ, Glaze DG, Neul JL, Patel A, Lee JA, Irons M, Berry SA, Pursley AA, Grebe TA, Freedenberg D, Martin RA, Hsich GE, Khera JR, Friedman NR, Zoghbi HY, Eng CM, Lupski JR, Beaudet AL, Cheung SW, Roa BB. Increased MECP2 gene copy number as the result of genomic duplication in neurodevelopmentally delayed males. *Genet Med*. 2006 Dec;8(12):784-92

Glaze DG, Percy AK, Skinner S, Motil KJ, Neul JL, Barrish JO, Lane JB, Geerts SP, Annese F, Graham J, McNair L, Lee HS. Epilepsy and the natural history of Rett syndrome. *Neurology*. 2010 Mar 16;74(11):909-12

Goffin D, Allen M, Zhang L, Amorim M, Wang IT, Reyes AR, Mercado-Berton A, Ong C, Cohen S, Hu L, Blendy JA, Carlson GC, Siegel SJ, Greenberg ME, Zhou Z. Rett syndrome mutation MeCP2 T158A disrupts DNA binding, protein stability and ERP responses. *Nat Neurosci*. 2011 Nov 27;15(2):274-83.

Guy J, Gan J, Selfridge J, Cobb S, Bird A. Reversal of Neurological Defects in a Mouse Model of Rett Syndrome, *Science*. 2007 Feb 23;315(5815):1143-7

Hagberg B, Aicardi J, Dias K, Ramos O. A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia, and loss of purposeful hand use in girls: Rett's syndrome: report of 35 cases. *Ann Neurol*. 1983 Oct;14(4):471-9.

Hanks SB. Motor disabilities in the Rett syndrome and physical therapy strategies, *Brain Dev*. 1990;12(1):157-61.

Huppke P, Laccone F, Krämer N, Engel W, Hanefeld F. Rett syndrome: analysis of MECP2 and clinical characterization of 31 patients. *Hum Mol Genet*. 2000 May 22;9(9):1369-75.

Huppke P, Maier EM, Warnke A, Brendel C, Laccone F, Gärtner J. Very mild cases of Rett syndrome with skewed X inactivation, *J Med Genet*. 2006 Oct;43(10):814-6.

Jakovcevski M, Akbarian S. Epigenetic mechanisms in neurological Disease *Nat Med*. 2012 Aug;18(8):1194-204

Kirby RS, Lane JB, Childers J, Skinner SA, Annese F, Barrish JO, Glaze DG, Macleod P, Percy AK. Longevity in Rett syndrome: analysis of the North American Database. *J Pediatr*. 2010 Jan;156(1):135-138

Liebhauer GM, Riemann E, Baumeister FA. Ketogenic diet in Rett syndrome, *J Child Neurol*. 2003 Jan;18(1):74-5.

Marchetto MC, Carromeu C, Acab A, Yu D, Yeo GW, Mu Y, Chen G, Gage FH, Muotri AR. A model for neural development and treatment of Rett syndrome using human induced pluripotent stem cells. *Cell*. 2010 Nov 12;143(4):527-39

Meins M, Lehmann J, Gerresheim F, Herchenbach J, Hagedorn M, Hameister K, Epplen JT. Submicroscopic duplication in Xq28 causes increased expression of the MECP2 gene in a boy with severe mental retardation and features of Rett syndrome. *J Med Genet*. 2005 Feb;42(2)

Moretti P, Zoghbi HY. MeCP2 dysfunction in Rett syndrome and related disorders. *Curr Opin Genet Dev*. 2006 Jun;16(3):276-81.

Motil KJ, Morrissey M, Caeg E, Barrish JO, Glaze DG. Gastrostomy placement improves height and weight gain in girls with Rett syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009 Aug;49(2):237-42.

Na ES, Monteggia LM. The role of MeCP2 in CNS development and function. *Horm Behav*. 2011 Mar;59(3):364-8.

Na ES, Nelson ED, Kavalali ET, Monteggia LM. The impact of MeCP2 loss- or gain-of-function on synaptic plasticity. *Neuropsychopharmacology*. 2013 Jan;38(1):212-9.

Neul JL, Kaufmann WE, Glaze DG, Christodoulou J, Clarke AJ, Bahi-Buisson N, Leonard H, Bailey ME, Schanen NC, Zappella M, Renieri A, Huppke P, Percy AK; RettSearch Consortium. Rett syndrome: revised diagnostic criteria and nomenclature. *Ann Neurol*. 2010 Dec;68(6):944-50.

Percy AK, Neul JL, Glaze DG, Motil KJ, Skinner SA, Khwaja O, Lee HS, Lane JB, Barrish JO, Annese F, McNair L, Graham J, Barnes K. Rett syndrome diagnostic criteria: lessons from the Natural History. *Ann Neurol*. 2010 Dec;68(6):951-5.

Peters SU, Hundley RJ, Wilson AK, Carvalho CM, Lupski JR, Ramocki MB. Brief Report: Regression Timing and Associated Features in MECP2 Duplication Syndrome. *J Autism Dev Disord*. 2013 Oct;43(10):2484-90.

Prescott TE, Rødningen OK, Bjørnstad A, Stray-Pedersen A. Two brothers with a microduplication including the MECP2 gene: rapid head growth in infancy and resolution of susceptibility to infection. *Clin Dysmorphol*. 2009 Apr;18(2):78-82.

Ramocki MB, Peters SU, Tavyev YJ, Zhang F, Carvalho CM, Schaaf CP, Richman R, Fang P, Glaze DG, Lupski JR, Zoghbi HY. Autism and other neuropsychiatric symptoms are prevalent in individuals with MeCP2 duplication syndrome. *Ann Neurol*. 2009 Dec;66(6):771-82.

Ramocki MB, Tavyev YJ, Peters SU. The MECP2 duplication syndrome. *Am J Med Genet A*. 2010 May;152A(5):1079-88.

Rastegar M, Hotta A, Pasceri P, Makarem M, Cheung AY, Elliott S, Park KJ, Adachi M, Jones FS, Clarke ID, Dirks P, Ellis J. MECP2 isoform- specific vectors with regulated expression for Rett Syndrome gene therapy. *PLoS One*. 2009 Aug 27;4(8)

Renieri A, Mari F, Mencarelli MA, Scala E, Ariani F, Longo I, Meloni I, Cevenini G, Pini G, Hayek G, Zappella M. Diagnostic criteria for the Zappella variant of Rett syndrome (the preserved speech variant) *Brain Dev*. 2009 Mar;31(3):208-16

Rett A. On an unusual brain atrophy syndrome in hyperammonemia in childhood. *Wien Med Wochenschr* 1966. 116(37) 723-726

Riise R, Brox JI, Sorensen R, Skjeldal OH. Spinal deformity and disability in patients with Rett syndrome. *Dev Med Child Neurol*. 2011 Jul;53(7):653-7

Samaco RC, Fryer JD, Ren J, Fyffe S, Chao HT, Sun Y, Greer JJ, Zoghbi HY, Neul JL. A partial loss of function allele of *Methyl-CpG-binding protein 2* predicts a human neurodevelopmental syndrome. *Hum Mol Genet*. 2008 Jun 15;17(12):1718-27.

Sekul EA, Moak JP, Schultz RJ, Glaze DG, Dunn JK, Percy AK. Electrocardiographic findings in Rett syndrome: an explanation for sudden death? *J Pediatr*. 1994 Jul;125(1):80-2.

Shahbazian MD, Antalffy B, Armstrong DL, Zoghbi HY. Insight into Rett syndrome: MeCP2 levels display tissue and cell-specific differences and correlate with neuronal maturation. *Hum Mol Genet*. 2002 Jan 15;11(2):115-24.

Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. MECP2 duplication syndrome in both genders. *Brain Dev*. 2013 May;35(5):411-9.

Skjeldal OH, von Tetzchner S, Aspelund F, Herder GA, Lofteld B. Rett syndrome: geographic variation in prevalence in Norway. *Brain Dev.* 1997 Jun;19(4):258-61.

Smeets EE, Pelc K, Dan B. Rett Syndrome. *Mol Syndromol.* 2012 Apr;2(3-5):113-127

Smyk M, Obersztyn E, Nowakowska B, Nawara M, Cheung SW, Mazurczak T, Stankiewicz P, Bocian E. Different-sized duplications of Xq28, including MECP2, in three males with mental retardation, absent or delayed speech, and recurrent infections. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008 Sep 5;147B(6):799-806.

Tang SS, Fernandez D, Lazarou LP, Singh R, Fallon P. MECP2 triplication in 3 brothers - a rarely described cause of familial neurological regression in boys. *Eur J Paediatr Neurol.* 2012 Mar;16(2):209-12.

Trappe R, Laccone F, Cobilanschi J, Meins M, Huppke P, Hanefeld F, Engel W. MECP2 mutations in sporadic cases of Rett syndrome are almost exclusively of paternal origin. *Am J Hum Genet.* 2001 May;68(5):1093-101.

Tropea D, Giacometti E, Wilson NR, Beard C, McCurry C, Fu DD, Flannery R, Jaenisch R, Sur M. Partial reversal of Rett syndrome-like symptoms in MeCP2 mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Feb 10;106(6):2029-34.

Van Esch H, Bauters M, Ignatius J, Jansen M, Raynaud M, Hollanders K, Lugtenberg D, Bienvenu T, Jensen LR, Gecz J, Moraine C, Marynen P, Fryns JP, Froyen G. Duplication of the *MECP2* Region Is a Frequent Cause of Severe Mental Retardation and Progressive Neurological Symptoms in Males. *Am J Hum Genet.* 2005 Sep;77(3):442-53.

Van Esch H. MECP2 Duplication Syndrome. *Mol Syndromol.* 2012 Apr;2(3-5):128-136.

Villard L, Kpebe A, Cardoso C, Chelly PJ, Tardieu PM, Fontes M. Two affected boys in a Rett syndrome family: clinical and molecular findings. *Neurology.* 2000 Oct 24;55(8):1188-93.

Wilfong AA, Schultz RJ. Vagus nerve stimulation for treatment in epilepsy in Rett syndrome. *Dev Med Child Neurol.* 2006 Aug;48(8):683-6.

Zachariah RM, Rastegar M. Linking Epigenetics to Human Disease and Rett Syndrome: The Emerging Novel and Challenging Concepts in MeCP2 Research. *Neural Plast.* 2012;2012:415825.

Zhang Y, Minassian BA. Will my Rett syndrome patient walk, talk, and use her hands? *Neurology.* 2008 Apr 15;70(16):1302-3.